



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA –
PIBIC**

**DESENVOLVIMENTO DE MEIAS ELÁSTICAS
COMPRESSIVAS CONTENDO FLAVONOIDE NANOENCAPSULADO E
ENSAIO CLÍNICO**

Área do conhecimento: Ciências da saúde
Subárea do conhecimento: Farmácia
Especialidade do conhecimento: Nanotecnologia

Relatório Final

Período da bolsa: de Agosto de 2017 a Julho de 2018
Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PIBIC/CNPq

Orientador: Adriano Antunes de Souza Araújo

Autor: Milena de Jesus Santos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVOS	5
2.1. GERAL.....	5
2.2. ESPECÍFICOS.....	6
3. METODOLOGIA.....	6
3.1. MATERIAIS E MÉTODOS	6
3.2. PREPARAÇÃO DE NANOCÁPSULAS.....	6
3.3. IMPREGNAÇÃO DAS FORMULAÇÕES EM TECIDOS	7
3.4. TEOR DOS TECIDOS	7
3.5. PROCEDIMENTO DE LAVAGEM.....	7
3.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	8
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	8
3.8. ENSAIO CLÍNICO	8
3.8.1. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA	9
3.8.2. AVALIAÇÃO DO ERITEMA, ELASTICIDADE, HIDRATAÇÃO E PIGMENTAÇÃO DA PELE	9
3.8.3. AVALIAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA DO EDEMA.....	9
3.8.4. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA.....	10
3.8.5. PERCEPÇÃO DE DOR ATRAVÉS DA ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA)	10
3.8.6. ANÁLISE DOS DADOS	10
3.8.7. ASPECTOS ÉTICOS	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	11
5. CONCLUSÕES	21
6. PERSPECTIVAS	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
8. OUTRAS ATIVIDADES	34

1. INTRODUÇÃO

Os flavonoides são um grande grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos em plantas (ROOHBAKHSH et al., 2015). A hesperetina (Hst), 5,7,3'-tri-hidroxi-4'-metoxiflavanona, é um bioflavonoide encontrado abundantemente em frutas cítricas com propriedades promissoras como antioxidante e anti-inflamatória (ADELLI et al., 2015). Vários estudos mostraram que os flavonoides cítricos podem exercer efeitos antiaterogênicos e vasculoprotetores pela modulação da expressão de moléculas relacionadas à inflamação, impedindo a formação de células espumosas, reduzindo a área das placas ateroscleróticas, melhorando o perfil lipídico, inibindo a adesão de monócitos ao endotélio e modulando a migração celular (GIMENEZ-BASTIDA et al., 2016). Além disso, a Hst causa a inibição de canais de Ca^{2+} com voltagem tipo L e melhora do canal de K^{+} de voltagem onde as correntes dos miócitos têm um efeito vasorelaxante direto (LIU et al., 2014). A este respeito, a ativação e agregação plaquetária subsequente é considerada um fenômeno muito importante na patogênese de doença cardiovascular e de doenças vasculares periféricas. Estudo anterior demonstrou que a agregação plaquetária induzida por colágeno e ácido araquidônico é potencialmente inibida por Hst através da inibição da fosforilação da fosfolipase C- γ 2 (PLC γ 2) e ciclooxygenase-1 (JIN et al., 2007). A serotonina também está efetivamente envolvida na agregação plaquetária. A Hst também pode ter efeitos antiplaquetários através da inibição da secreção de serotonina induzida por ácido araquidônico (ROOHBAKHSH et al., 2015). Assim seus efeitos antiplaquetários fazem da Hst uma candidata promissora no tratamento de insuficiência venosa crônica (IVC). No entanto, o uso clínico de Hst tem sido limitado devido à sua baixa solubilidade aquosa e consequente reduzida biodisponibilidade *in vivo*. A baixa biodisponibilidade de moléculas hidrofóbicas exige o uso de altas doses para superar os níveis subterapêuticos no plasma (ARYA et al., 2016).

Para contornar esta limitação, diversos estudos têm sido publicados descrevendo novos sistemas de liberação, como complexos de inclusão com

ciclodextrinas (MENEZES et al., 2012; YANG et al., 2016) e nanopartículas (SHAAL et al., 2014; ARYA et al., 2016; FRANK et al., 2015). Sistemas de nanopartículas têm sido considerados largamente estudados e portanto, considerados promissores na liberação de substâncias terapêuticas (BITENCOURT et al., 2016). Um dos principais desafios em relação às doenças crônicas é a adesão do paciente aos tratamentos prescritos. Muitas condições requerem cuidados baseados em grande parte no autogerenciamento do paciente (geralmente requerendo multiterapias complexas). Tecnologias médicas que monitoram mudanças no estilo de vida do paciente são fundamentais para o tratamento. A Organização Mundial de Saúde estimou que nos países desenvolvidos apenas 50% dos pacientes que sofrem de doenças crônicas aderem aos tratamentos prescritos (WHO, 2003). Nessa perspectiva, a nanotecnologia é uma ferramenta importante na concepção de novas formulações ou produtos de cuidados de saúde (YANG et al., 2016; YUAN e CRANSTON, 2008).

Nanopartículas usadas como sistemas de liberação de fármacos têm tamanhos de partículas na faixa de 10–999 nm (CONTRI et al., 2016). Dependendo dos métodos e materiais usados para a preparação, diferentes estruturas supramoleculares podem ser obtidas. Em geral, compostos dissolvidos em um núcleo oleoso e cercado por invólucro polimérico, são conhecidos como nanocápsulas (SCHAFFAZICK et al., 2003; VENTURINI et al., 2015). Esses sistemas têm várias vantagens, incluindo liberação controlada e sustentada do fármaco, permitindo um tratamento eficaz e menos tóxico do que quando se usam as opções convencionais (MORA-HUERTAS ;FESSI e ELAISSARI, 2010)

Na pele, as nanocápsulas podem atuar como um sistema de reservatório para substâncias lipofílicas, (GUTERRES; ALVES e POHLMANN, 2007) controlando sua penetração/permeação na pele através do contato com o estrato córneo (CONTRI et al., 2014). Vários estudos têm avaliado a administração de nanocápsulas por diferentes vias, tais como, orais, oculares, vaginais, parenterais e cutâneas, demonstrando a versatilidade dos sistemas.

As nanocápsulas de núcleo lipídico (LNCs) são um tipo muito específico de nanocápsulas poliméricas não tóxicas (BULCAO et al., 2014), nas quais o núcleo oleoso é formado por um organogel composto de triglicerídeo dos ácidos cáprico/caprílico e monoestearato de sorbitano. A composição química central permite que essas nanocápsulas controlem a penetração de fármacos em diferentes tecidos (MATHES et al., 2016). Uma variedade de nanossistemas, como transportadores lipídicos nanoestruturados, nanossuspensões e nanocristais foram estudados com Hst (SHAAL et al., 2014; FATHI, 2013; SHETE, 2015). Todavia, o presente estudo propõe o encapsulamento de Hst em LNCs. Novas formulações atraíram o setor têxtil e encorajaram o desenvolvimento de tecidos contendo fármacos ou ingredientes ativos para administração tópica em uma variedade de usos, incluindo o tratamento de IVC e outras condições (CRAVOTTO et al., 2011; NICHIFOR et al., 2009), bem como em tecidos antibacterianos e repelentes de insetos (FORGEARINI et al., 2016; YUAN e CRANSTON, 2008). A substância de interesse é liberada em resposta a um estímulo cutâneo, como sudorese, fricção ou enzimas da pele (RADU; PARTENI e OCHIUZ, 2016). Diante desse contexto, nosso objetivo consistiu em projetar uma abordagem inovadora para o tratamento da IVC. Esta caracteriza-se como meias compressivas impregnadas com nanocápsulas contendo Hst. A referida tecnologia consiste, portanto, em uma proposta de ação sinérgica da compressão associada a um agente venoativo capaz de melhorar a qualidade de vida dos pacientes com a referida doença. Pretende-se com essa tecnologia, fornecer uma alternativa terapêutica simples e fácil de usar de modo a melhorar a adesão à terapia.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Preparar, caracterizar, bem como avaliar clinicamente o efeito de meias compressivas contendo flavonóide nanoencapsulado.

2.2. ESPECÍFICOS

- Preparar e caracterizar nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina.
- Impregnar e caracterizar tecidos de algodão e poliamida (utilizados na confecção de meias compressivas) com a suspensão de nanocápsulas.
- Investigar clinicamente o efeito de meias compressivas contendo hesperetina nanoencapsulada.
- Avaliar o impacto do uso das meias compressivas otimizadas na qualidade de vida dos pacientes com IVC.

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAIS E MÉTODOS

O algodão e a poliamida (PA) foram obtidos do Empório das Sedas (Porto Alegre, Brasil), polissorbato 80 de Delaware (Porto Alegre, Brasil), poli (ϵ -caprolactona) (PCL, peso molecular (M_n) = 80 000 g/mol) e monoestearato de sorbitano da Aldrich (Lesquin, França), triglicerídeos dos ácidos capríco/caprílico da Brasquim (Brasil), Savon de Marseille da L'Occitane (Brasil) e a hesperetina (HT) da Sigma-Aldrich (St Louis, MO, EUA).

3.2. PREPARAÇÃO DE NANOCÁPSULAS

As nanocápsulas poliméricas foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. O polímero, PCL (0,1 g), monoestearato de sorbitano (0,038 g), triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico (0,165 mL) e hesperetina (0,005 g) foram dissolvidos em acetona (27 mL). Em outro balão, dispersou-se polissorbato 80 (0,077 g) em 53 mL de água. As fases orgânica e aquosa foram aquecidas a 40 ° C, sob agitação. Após a dissolução de todos os componentes, a fase orgânica foi vertida na fase aquosa e a solução turva formada instantaneamente foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 10 min. O volume final da formulação foi ajustado para 10 mL, após a eliminação do solvente orgânico, acetona, e parte da água sob pressão reduzida a 40 ° C.

3.3. IMPREGNAÇÃO DAS FORMULAÇÕES EM TECIDOS

A impregnação das formulações nos tecidos seguiu uma versão ligeiramente modificada do método descrito por Forgearini et al. As nanocápsulas poliméricas carregadas com hesperetina em dispersão aquosa foram borrifadas (três vezes) sobre uma peça de 6 x 6 cm² de tecido (algodão ou poliamida). Paralelamente, também foi aplicada uma solução hidroalcoólica do fármaco (HT: 0,5 mg/mL livre) nas mesmas condições para comparar as formulações. Com o objetivo de estimar a quantidade de hesperetina, após a pulverização do produto nos tecidos, determinou-se a densidade relativa de cada produto, bem como o peso de cada amostra de tecido antes e depois da pulverização (nanocápsulas poliméricas-hesperetina e hesperetina livre). A densidade relativa foi realizada utilizando um picnômetro de 10 mL, em comparação com a água ($d = 1$ g/mL). Após a determinação da densidade, calculou-se a quantidade de hesperetina nos tecidos.

3.4. TEOR DOS TECIDOS

Os tecidos contendo as formulações foram cortados e colocados em tubos contendo acetonitrila, que foram submetidos separadamente ao vortex durante 5 min e depois ao ultrassom durante 30 minutos para extrair a hesperetina. Após a dissolução dos materiais com acetonitrila, a solução foi filtrada e analisada por CLAE. Todas as análises foram realizadas por lotes em triplicatas ($n = 3$).

3.5. PROCEDIMENTO DE LAVAGEM

Este teste foi realizado para analisar a adesão de hesperetina aos tecidos. Depois de pulverizar as formulações em algodão ou poliamida, os tecidos foram lavados uma ou cinco vezes. Este teste foi baseado no método descrito anteriormente por Forgearini et al em que as amostras foram introduzidas em um recipiente contendo 500 mL de uma solução de sabão (2 g/L - Savon de Marseille). O recipiente foi mantido em um termostato a 30 °C. Os tecidos foram agitados durante 10 min a 200 rpm. Posteriormente, foram removidos e lavados duas vezes em água destilada nas mesmas condições

descritas anteriormente. Após cinco lavagens, os tecidos foram removidos e secos à temperatura ambiente. Para a análise da quantidade de hesperetina em tecidos após lavagem, utilizou-se a mesma metodologia descrita na seção "Procedimento de lavagem". A análise foi realizada em triplicata ($n = 3$).

3.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para verificar a morfologia dos tecidos antes e depois da impregnação com as formulações, bem como observar a estrutura das fibras têxteis após a lavagem, realizou-se a análise microscópica de cada peça de tecido. As análises foram realizadas utilizando equipamento de microscopia eletrônica de varredura (*Scanning Microscope* Jeol-JSM-5800) com ampliação de 3.000 vezes e 5.500 vezes.

Estes estudos foram realizados no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Centro de Microscopia Electrónica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul).

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados usando o software *GraphPad Prism* versão 5.0. Os testes utilizados foram análise de variância seguida do teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3.8. ENSAIO CLÍNICO

Realizou-se um ensaio clínico piloto de fase II sob aprovação do comitê de ética em humanos (CAAE: 91428318.7.0000.5546), controlado, randomizado e duplo cego em pacientes abordados no setor ambulatorial de Cirurgia Vascular do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (HU/UFS). Dentre os pacientes atendidos foram selecionados 2 pacientes para participarem de cada grupo. Sendo um grupo no qual os pacientes fizeram uso de placebo via oral e das meias compressivas sem as nanocápsulas de hesperetina, um grupo controle que fez uso da hesperetina na forma oral e as meias sem as nanocápsulas, e um grupo teste que administrou placebo via

oral e das meias compressivas impregnadas com as nanocápsulas de hesperetina.

3.8.1. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Os pacientes foram avaliados macroscopicamente quanto as características da doença como edema, eritema e irritação cutânea através de registros fotográficos padronizados da área afetada utilizando a câmera digital Nikon Dslr D3400® que foi posicionada a aproximadamente 40 cm da região comprometida, perpendicularmente à sua superfície.

3.8.2. AVALIAÇÃO DO ERITEMA, ELASTICIDADE, HIDRATAÇÃO E PIGMENTAÇÃO DA PELE

Os parâmetros como eritema, elasticidade, hidratação e pigmentação da pele foram avaliados através do equipamento MPA 580 no qual possui as sondas *Cutometer*®, *Tewameter* TM® e *Mexameter* MX®. Antes de tal avaliação os pacientes permaneceram em repouso para aclimação durante 30 minutos em um ambiente com temperatura e umidade controladas (20-22 °C; umidade: 45-55%).

3.8.3. AVALIAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA DO EDEMA

Todos os pacientes foram avaliados quanto ao aumento ou redução do edema no tempo 0 referente ao início do estudo, no tempo 3 referente a 3 meses do estudo e no tempo 6 referente a 6 meses do estudo. As avaliações foram realizadas através da técnica de Cirtometria, onde o ponto de referência adotado foi o maléolo medial de ambos os membros inferiores dos pacientes. Uma fita métrica foi posicionada do maléolo medial em até 7,14 e 21 cm acima do ponto marcado, onde foi aferida a circunferência da perna em cada altura referida. Para cada ponto de referência foram coletadas três medidas em três momentos diferentes, com intervalos de um minuto entre elas.

3.8.4. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA

Para a avaliação da qualidade de vida, aplicou-se o questionário Aberdeen (AVVQ), que é um instrumento validado para a avaliação da qualidade de vida em pacientes com insuficiência venosa crônica.

3.8.5. PERCEPÇÃO DE DOR ATRAVÉS DA ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA)

A EVA é um instrumento no qual o paciente pode mensurar e expressar a percepção da dor através do uso de valores numéricos que variam de 0 a 10, sendo 0 para nenhuma dor e 10 para pior dor possível, ou por desenho de expressões faciais qualificando a dor em leve, moderada e intensa, ou ainda uma junção das duas, podendo ser utilizada de forma rápida e prática, permitindo sua utilização tanto em ambientes hospitalares, clínicas e pesquisas (AQUINO et al., 2016). A EVA foi aplicada aos pacientes de todos os grupos tanto antes quanto após o término do período de uso das meias estabelecido para pesquisa.

3.8.6. ANÁLISE DOS DADOS

A comparação entre os grupos foi realizada a partir dos valores médios obtidos da análise quantitativa dos instrumentos de medidas comparativas entre os grupos, prefixando-se o intervalo de confiança em 95% ($p < 0,05$). Utilizou-se testes de normalidade como pré-testes, e seus respectivos testes estatísticos a depender da parametricidade dos dados, utilizando o Programa Bioestat versão 5.3.

3.8.7. ASPECTOS ÉTICOS

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foram aplicados os princípios éticos, sendo este projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (CAAE: 91428318.7.0000.5546) da UFS. Os termos da Resolução 196/96, versão 2012, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde sobre pesquisas envolvendo seres humanos foram respeitados, assim como as normas e resoluções advindas do Grupo Mercado Comum (GMC) Nº129/96, obedecendo à Lei 6.360 (23 de setembro de 1976), em especial o Art. 76,

regulamentada pelo Decreto Nº 79.094 (05 de janeiro de 1977). Foram respeitadas também as boas práticas de pesquisa, assim como a regulamentação para a realização de pesquisa clínica, legislada pela ANVISA, em 20 de fevereiro de 2015. Este estudo seguiu os protocolos necessários para atender o paciente e seus familiares, respeitando-os quanto à autonomia e defendendo-os em sua vulnerabilidade.

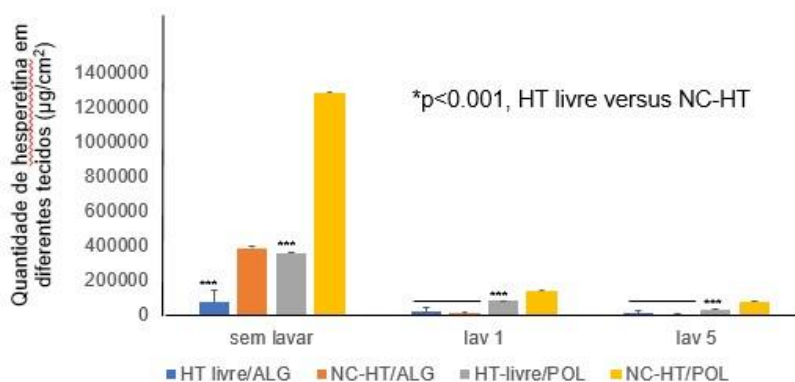
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A presente formulação tem potencial para aplicação tópica, portanto, foi impregnada em fibras têxteis como uma alternativa às formulações convencionais para o tratamento de IVC. Existem alguns estudos que utilizaram diferentes tecidos (PA, poliuretano e viscose) impregnados com fármacos (troxerutina e aescina) para o tratamento de IVC. No entanto, esses estudos usaram ciclodextrinas como a plataforma de fornecimento de fármacos^{30,44,55}. Todavia, esse tipo de sistema não é eficiente para liberação controlada de fármacos. Nessa perspectiva, nosso estudo utilizou nanocápsulas poliméricas para liberar hesperetina de forma controlada, sendo assim, uma estratégia interessante para o tratamento desta doença. Nós impregnamos a referida formulação em algodão natural ou fibra sintética (PA, feita a partir de ϵ -caprolactama ou hexametilenodiamina e ácido adípico) utilizada na fabricação de meias de compressão elástica.^{52,53}

As formulações apresentaram tamanho de partícula na faixa nanométrica, com perfil controlado de liberação e permeação até a derme. A densidade relativa das formulações foi determinada para calcular o conteúdo necessário de hesperetina para impregnar nas fibras. As fibras foram pesadas antes e depois das formulações serem aplicadas (três vezes). Os valores das densidades das nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina e da hesperetina livre foram 1,03 e 0,93 mg/mL, respectivamente. Com relação ao conteúdo de hesperetina nos tecidos, observamos que a fibra de algodão continha menos hesperetina livre ($93,033,91 \pm 2,684.81 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) do que nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina ($387,633.40 \pm 8,331.20$

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$) quando comparada com a fibra de PA (hesperetina livre: $358,577,2 \pm 1,686.82 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ e nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina: $1,281.281 \pm 5,074.31 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, Figura 1).

Figura 1: Quantificação de nanocápsulas contendo hesperetina (NC-HT) e solução hidroalcoólica (HT livre) impregnados em fibras de algodão e poliamida antes da primeira e quinta lavagens.



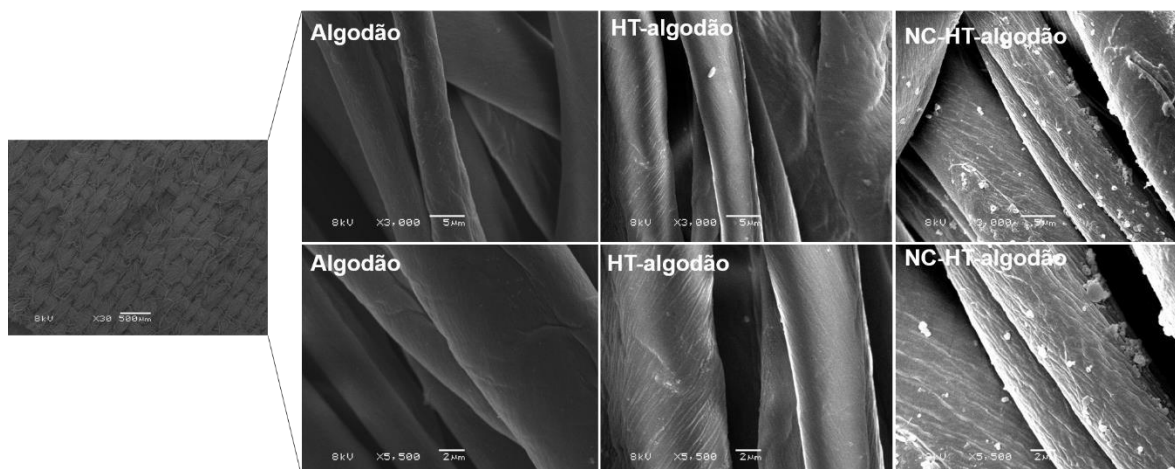
Número de lavagens	% NC-HT/ALG	%NC-HT/POL	NC-POL / NC-ALG
1	4,41	11,21	2,54
5	2,18	6,12	2,80

O melhor perfil de impregnação das amostras de fibra PA, especialmente em relação as nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina, pode ser explicado porque os polímeros têm a característica de se unir através de forças intermoleculares mais fracas, como forças de van der Waals, ligação de hidrogênio ou interação dipolo-dipolo. Além disso, a interação polímero-polímero entre o tecido e os polímeros das nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina foi bastante eficaz.⁵³ Isso significa que uma interação entre os dois polímeros é suficiente para produzir um alto nível de adesão nas nanopartículas. Este tipo de interação é uma ligação de hidrogênio entre o H doador do grupo NH e o C = O presente no receptor PCL.

Após a lavagem dos tecidos, observou-se que a PA com as nanocápsulas poliméricas livre e as nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina perdeu menos fármaco ao longo das cinco lavagens e, portanto, foi escolhido como o tecido a ser usado no decorrer do estudo. Após uma

lavagem, a PA tinha 2,54 vezes mais nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina do que o algodão. Após cinco lavagens, a PA tinha 2,80 vezes mais nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina do que o algodão. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram um melhor perfil de impregnação em amostras das fibras de PA (Figura 2-5).

Figura 2: Micrografia eletrônica de varredura (MEV) de hesperetina (HT), nanocápsulas contendo hesperetina (NC-HT- algodão) e solução hidroalcoólica (HT-algodão) impregnada em fibra de algodão em diferentes ampliações.



Além disso, a ampliação de 30x, é possível observar a estrutura das fibras. As fibras de algodão estão mais fechadas, enquanto as da PA estão mais abertas com espaço para uma melhor impregnação. Observou-se também, partículas maiores na água em que o algodão tinha sido lavado do que a caracterização (D [4.3] e d [0.5]). Vale ressaltar que partículas com tamanho micrométrico foram observadas no algodão, sugerindo que tais partículas aderem às fibras de algodão em forma de aglomerados (como mostrado nas imagens por micrografia eletrônica de varredura, Figura 3), uma vez que não há espaço suficiente para adesão individualizada das partículas, como é o caso da PA (Figura 5).

Figura 3: Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) de nanocápsulas contendo hesperetina (NC-HT) e solução hidroalcoólica (HT-lav) impregnadas em fibra de algodão após primeira (lav 1) e quinta lavagens (lav 5).

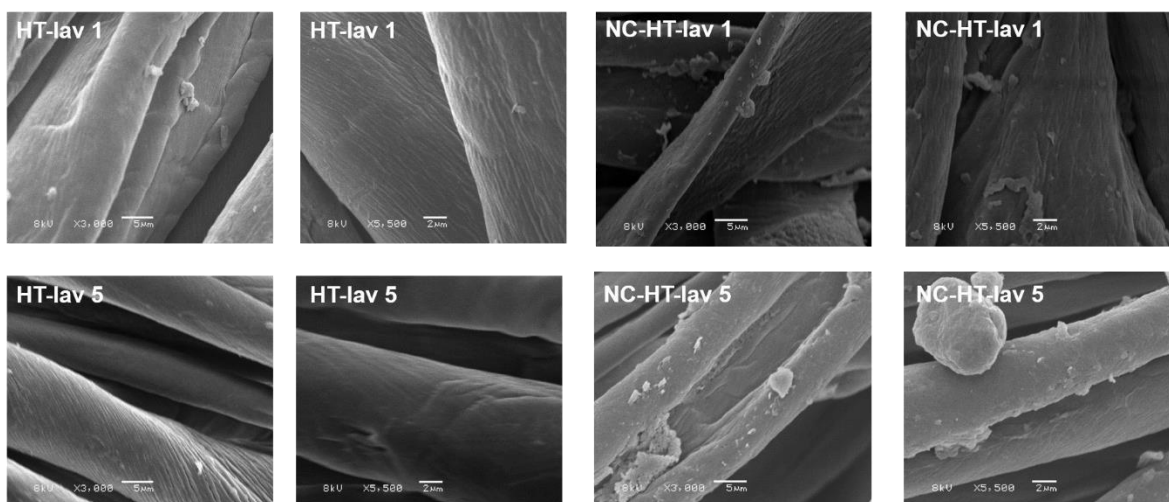


Figura 4: Micrografia eletrônica de varredura (MEV) de nanocápsulas contendo hesperetina e solução hidroalcoólica (HT-poliamida) impregnadas em fibra de poliamida (PA) em diferentes ampliações.

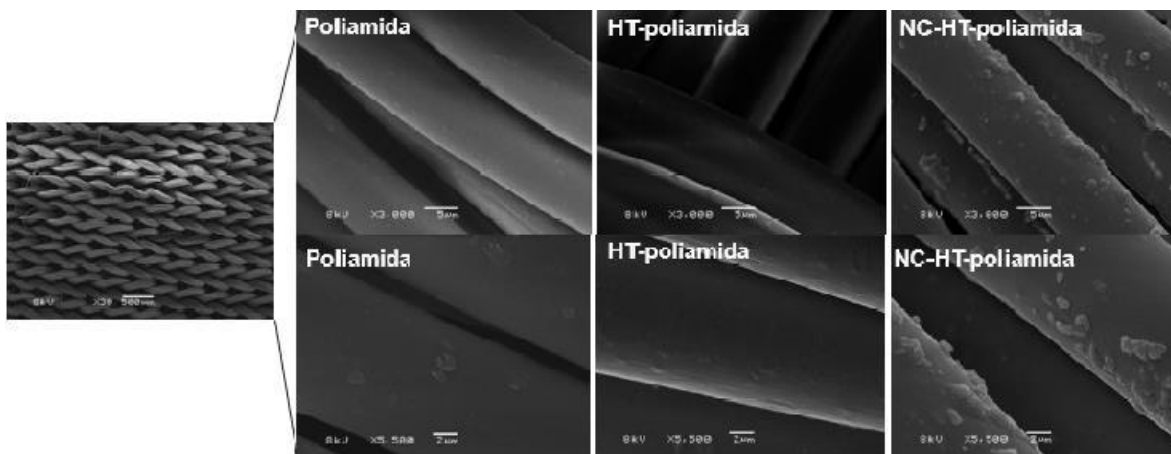
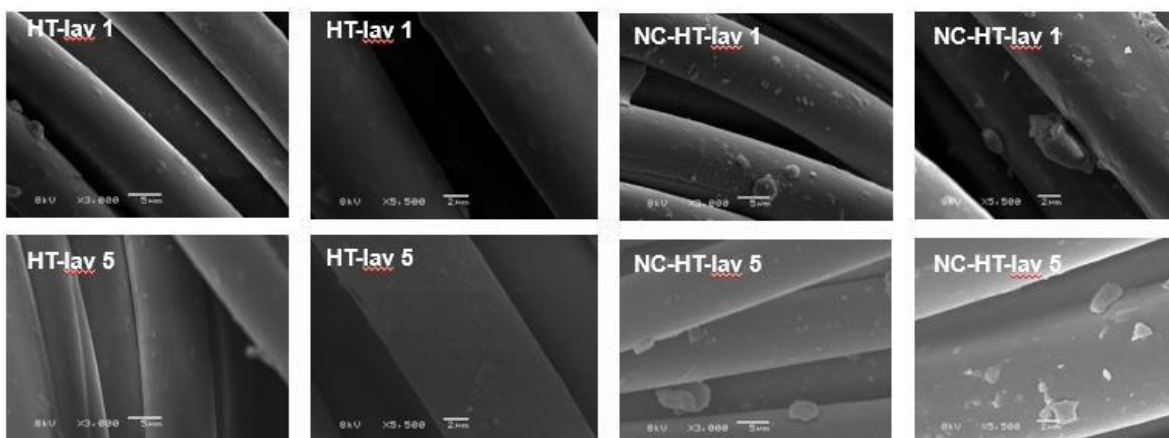


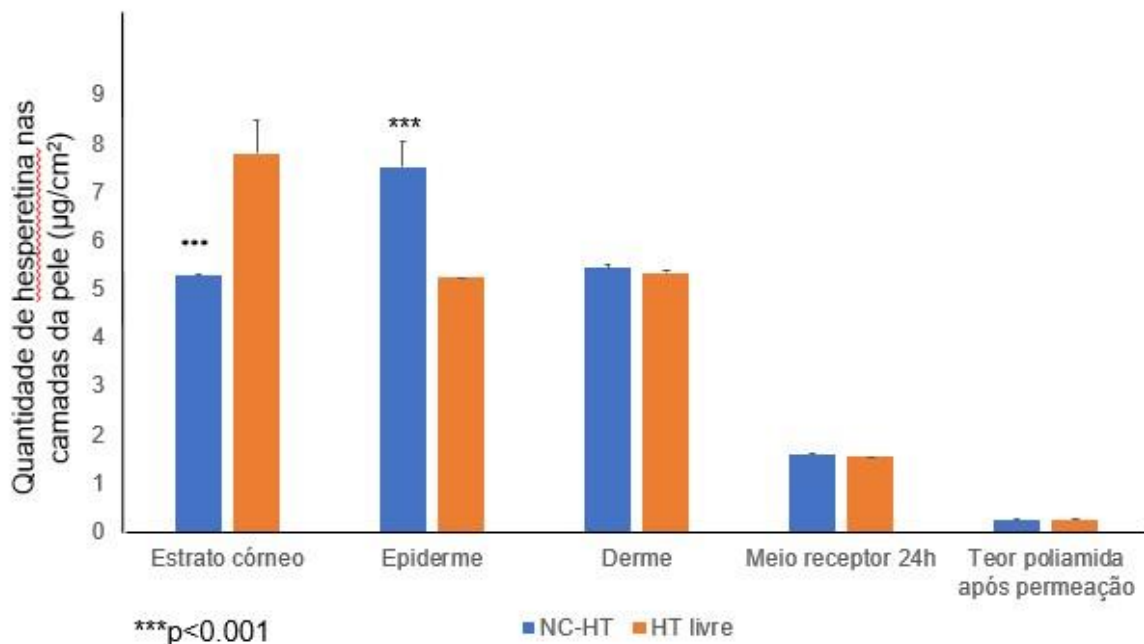
Figura 5: Micrografia eletrônica de varredura (MEV) nanocápsulas contendo hesperetina e solução hidroalcoólica (HT-lav) impregnadas em fibra de poliamida (PA) após primeira (lav 1) e quinta lavagens (lav-5).



O elevado valor do potencial zeta negativo das nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina em PA pode ser atribuído a PA sozinha, uma vez que esta possui um elevado potencial zeta negativo como demonstrado por Espinosa-Jiménez et al.¹⁸

O perfil de permeação/penetração (Figura 6) da PA impregnada com nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina usando a pele da orelha de porco mostrou que o fármaco impregnado nas nanocápsulas permeava a PA, uma vez que foram quantificados na derme sem diferença significativa nesta camada, bem como no meio receptor (50% de etanol). As nanocápsulas e hesperetina livre puderam deixar o tecido e permear as camadas da pele com uma diferença significativa somente no estrato córneo e na epiderme. Após 24 h, houve uma quantidade quase idêntica de nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina e hesperetina livre nas fibras de PA ($0,25 \pm 0,01$ e $0,24 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente), indicando que nanocápsulas poliméricas contendo hesperetina conseguiram permear/penetrar o tecido para camadas de pele, porque é um sistema de liberação controlada que não teve uma diferença significativa na liberação imediata do fármaco.

Figura 6: Perfil de penetração/permeação da pele nanocápsulas contendo hesperetina (NC-HT) e fármaco livre (HT livre) impregnado em poliamida.



Assim, tais resultados demonstraram que a poliamida (PA) é uma plataforma interessante para a liberação de nanocápsulas contendo hesperetina no tratamento de doenças do sistema circulatório, conforme discutido no presente estudo. Radu et al., (2016) ressaltaram que os principais fatores que contribuem para a permeação de fármacos na pele são transpiração, fricção e enzimas da pele. Diante dos resultados promissores com a presente formulação, demos início a um ensaio clínico piloto duplo cego, controlado. Os pacientes constituíram uma amostra por conveniência, na qual os mesmos foram selecionados de acordo com a classificação CEAP (clínica, etiológica, anatômica e fisiopatológica) a saber: CEAP 1: telangiectasias ou veias reticulares, CEAP 2: veias varicosas, CEAP 3: edema, CEAP 4: pigmentação ou eczema, CEAP 5: úlcera venosa cicatrizada, CEAP 6: úlcera venosa em atividade (Tabela 1). Foram excluídos pacientes que não apresentavam a doença, crianças, gestantes, pacientes com síndrome metabólica e aqueles que se recusaram a participar da pesquisa e/ou assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Tabela 1: Caracterização da amostra, contendo a identificação dos grupos, idade, sexo, classificação CEAP de insuficiência venosa crônica e idade da úlcera.

<u>Paciente</u>	<u>Idade (anos)</u>	<u>Sexo</u>	<u>CEAP</u>	<u>Idade da úlcera</u>
GPP18	56	F	2	—
GPP20	66	F	3	—
GPC5	50	F	5	—
GPC15	70	F	6	8 meses
GTP4	70	F	2	—
GTP8	52	M	6	2 anos

Ao final do estudo, percebeu-se que incluir todas as classificações da doença acarreta um viés de seleção da amostra, uma vez que dificulta a comparação entre os grupos. Esse viés se agrava devido ao reduzido número de pacientes por grupo. Por isso, será realizado um ensaio clínico com um n maior e que envolva a classificação da doença que foi mais beneficiada com o tratamento proposto.

O paciente GTP8 do grupo teste, 52 anos, sexo masculino, CEAP 6, possuindo assim úlcera venosa simétrica e aberta nos dois membros inferiores, o que é uma característica da doença em homens, foi o paciente que apresentou melhora com maior significado clínico nos tempos estabelecidos no estudo (Figura 7).

Figura 7: Análise macroscópica dos pacientes nos tempos 0, 3 e 6 meses.



Sendo assim, optamos por realizar um relato de caso do paciente GTP8 do grupo teste. O paciente em questão, a priori estava com IVC CEAP 6, com duas úlceras ativas lateral e simetricamente em ambos os membros inferiores, com reduzida qualidade de vida, baixo estima e comprometimento sério nas suas atividades laborais.

Através do uso do equipamento MPA 580 e das suas sondas Cutometer®, Tewameter TM® e Mexameter MX®, o paciente apresentou no tempo 0 na perna direita: 608 de melanina, 345 de eritema, 5 g/hm² de hidratação e 4 de sebo; no tempo 3: 324 de melanina, 367 de eritema, 14 g/hm² de hidratação e 15 de sebo; no tempo 6: 448 de melanina, 385 de eritema, 10 g/hm² de hidratação e 0 de sebo. Na perna esquerda apresentou no tempo 0: 768 de melanina, 517 de eritema, 6 g/hm² de hidratação e 1 de sebo; no tempo 3: 529 de melanina, 354 de eritema, 12 g/hm² de hidratação e 11 de sebo; no tempo 6: 629 de melanina, 379 de eritema, 14 g/hm² de hidratação e 0 de sebo.

Quanto aos diâmetros venosos, o paciente GTP8 apresentou na perna direita na região da crossa no tempo 0: 10,0 mm com ausência de refluxo, no tempo 3: 11,0 mm com ausência de refluxo, no tempo 6: 6,6 mm com ausência de refluxo. Na perna esquerda no tempo 0: 10,1 mm com ausência de refluxo,

no tempo 3: 7,9 com ausência de refluxo e no tempo 6: 8,4 com ausência de refluxo. Na região do terço médio da coxa, na perna direita no tempo 0: 6,5 mm com refluxo ausente, no tempo 3: 6,1 mm com refluxo ausente, no tempo 6: 6,1 mm com refluxo ausente; na perna esquerda no tempo 0: 7,6 mm com refluxo ausente, no tempo 3: 5,9 mm com refluxo ausente e no tempo 6: 5,4 mm com refluxo ausente. No ponto J na perna direita apresentou no tempo 0: 5,8 mm com refluxo ausente, no tempo 3: 6,0 mm com refluxo ausente e no tempo 6: 4,9 mm com refluxo ausente; na perna esquerda no tempo 0: 7,6 mm com refluxo ausente, no tempo 3: 6,5 mm com refluxo ausente e no tempo 6: 6,8 mm com refluxo ausente. No terço médio da perna, no tempo 0: 5,0 mm com refluxo presente, no tempo 3: 4,7 mm com refluxo ausente, no tempo 6: 5,0 com refluxo ausente; na perna esquerda no tempo 0: 6,9 mm com refluxo presente, no tempo 3: 5,0 mm com refluxo presente e no tempo 6: 5,6 mm com refluxo ausente.

A avaliação da circunferência do edema através da técnica de cirtometria nas distâncias 7, 14 e 21 cm do maléolo medial obtiveram os seguintes resultados respectivamente: na perna direita no tempo 0: ferida, ferida e 45,0 cm, no tempo 3: ferida, ferida e 41,0 cm e no tempo 6: ferida, 36 cm e 45 cm; na perna esquerda no tempo 0: ferida, ferida e 43,5 cm, no tempo 3: ferida, ferida e 41, cm e no tempo 6: ferida, 42,0 cm e 40,0 cm. Dessa forma, podemos inferir que houve redução significativa do edema ao longo do estudo, um importante sinal clínico da doença.

Na avaliação da qualidade de vida através da aplicação do questionário Aberdeen (AVVQ) com questões que avaliaram fatores que ocorreram nas duas últimas semanas, o paciente GTP8 no item 2 que questiona sobre quantos dias as varizes causaram-lhe dor, no tempo 0 sinalizou que sentiu dor por mais de 10 dias, no tempo 3 que sentiu dor entre 1 e 5 dias e no tempo 6 que não sentiu dor de forma alguma. No item 3 que pergunta sobre quantos dias tomou remédio para diminuir a dor causadas pelas varizes, o paciente respondeu no tempo 0 que tomou em mais de 10 dias e nos tempos 3 e 6 que não tomou de forma alguma. No item 4 que questiona acerca do inchaço no

tornozelo, o paciente relatou no tempo 0 que o inchaço era intenso, no tempo 3 que não sentia inchaço de forma alguma e no tempo 6 que sentiu um ligeiro inchaço. No item 6 que questiona sobre a coceira associada as varizes, no tempo 0 o paciente relatou que sentiu coceira sim abaixo do joelho e nos tempos 3 e 6 que não sentiu coceira. O item 7 que questionava sobre a presença de mancha roxa causa por pequenos sangramentos de vasos sanguíneos na pele associado com as varizes, o paciente respondeu no tempo 0 e 3 que tinha sim e no tempo 6 que não tinha. No item 8 que perguntava sobre a presença de elevações, ressecamento ou manchas na pele na área do tornozelo, o paciente no tempo 0 relatou que tinha sim alterações no tornozelo, mas que não necessitavam de tratamento médico ou na enfermagem, no tempo 3 e 6 o paciente relatou que tinha sim alterações que necessitavam de tratamento médico ou da enfermagem. No item 9 que retrata sobre a presença de uma ferida de pele associada as varizes, o paciente no tempo 0 e 3 relatou que tinha ferida e no tempo 6 que não tinha ferida. Na pergunta 10 sobre se a aparência das varizes causa preocupação, o paciente nos três tempos relatou que sim, sente muita preocupação. No item 11 que trata da aparência das varizes relacionado a sua influência sobre a escolha de roupa incluindo meia-calça, o paciente nos três tempos relatou que sempre há essa influência. No item 12 sobre se houve ou não interferência das varizes no trabalho doméstico e nas atividades diárias, o paciente no tempo 0 relatou que sentiu um moderado prejuízo, no tempo 3 sentiu um ligeiro prejuízo e no tempo 6 não sentiu nenhuma interferência. No item 13 que trata sobre a interferência das varizes nas atividades de lazer, incluindo esporte, passatempos e vida social, o paciente relatou no tempo 0 que as veias o impediram de participar em todas as atividades de lazer, no tempo 3 sentiu que houve um ligeiro prejuízo e no tempo 6 não sentiu nenhuma interferência. A escala Aberdeen é validada e reconhecida internacionalmente como um instrumento que retrata de forma fidedigna a percepção do paciente quanto ao comprometimento das suas atividades diárias. Sobre a percepção de dor através da Escala Visual

Analógica (EVA), o paciente GTP8 relatou sentir dor moderada no tempo 0, e nos tempos 3 e 6 sentiu dor leve.

Diante dos resultados obtidos, infere-se que esse paciente teve uma melhora significativa no edema, dor e na sua qualidade de vida que estiveram diretamente relacionados ao fechamento da úlcera, evidenciando o potencial de cicatrização da hesperetina. Vale ressaltar que seis meses antes de iniciar o estudo o paciente já havia feito uso de meia compressiva, bota de unna, bem como medicamentos venoativos orais, contudo, tais métodos não foram eficazes no fechamento da ferida.

5. CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, sugere-se que as nanocápsulas apresentaram tamanho nanométrico uniforme e que a poliamida (PA) foi a plataforma têxtil com a melhor performance de liberação da formulação. Além disso, estudos de citotoxicidade foram realizados (dados não apresentados) e mostraram elevada viabilidade celular. Aliado a isso, a hesperetina (formada a partir da metabolização da hesperidina) é segura e clinicamente disponível na composição do Diosmim®. Sendo assim, a formulação proposta nesse estudo foi submetida a teste em um ensaio clínico com pacientes com IVC. A partir do estudo piloto, utilizou-se os resultados obtidos para a realização de um relato de caso de um paciente pertencente ao grupo teste que utilizava as meias compressivas de poliamida contendo nanocápsulas de hesperetina e ingestão de placebo por via oral. Esse paciente apresentou resultados interessantes na análise macroscópica, ao ser bastante visível a redução e/ou fechamento das úlceras que o mesmo possuía em ambos os membros inferiores. As ulcerações são a causa mais grave da doença. Uma vez que as nanocápsulas contendo hesperetina foram eficazes no processo de cicatrização, isso justifica a melhora em todos os demais parâmetros avaliados, inclusive a qualidade de vida, que é um fator evidente nos pacientes com IVC. Diante do que foi apresentado, o presente estudo apresenta-se como uma importante

contribuição ao desenvolvimento de novas opções terapêuticas e promoção das estratégias terapêuticas em saúde.

6. PERSPECTIVAS

Diante do que fora apresentado, as perspectivas oriundas desse estudo são de realizar um novo ensaio clínico, restringindo os critérios de inclusão a pacientes CEAP 6, de forma a proporcionar a comparação do tratamento com os grupos controles, com um n maior, gerando resultados mais consistentes.

A partir de então se os resultados continuarem promissores no campo da inovação do tratamento da insuficiência venosa crônica, as meias compressivas de poliamida contendo nanocápsulas de hesperetina poderão ser confeccionadas e comercializadas pela indústria farmacêutica que apresentar interesse.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELLI, G. R. et al. Evaluation of topical hesperetin matrix film for back-of-the-eye delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 92, n. 0, p. 74-82, 5// 2015.

ALONSO, C. et al. Antioxidant cosmeo-textiles: skin assessment. *Eur J Pharm Biopharm*, v. 84, n. 1, p. 192-9, May 2013.

ANVISA. Nota Técnica N° 64 /2012 Brasil: 1-6 p. 2012.

AL SHAAL L, Mishra PR, Muller RH, Keck CM. Nanosuspensions of hesperetin: preparation and characterization. *Pharmazie*. 2014; 69(3):173–182.

ARYA A, Khandelwal K, Ahmad H, et al. Co-delivery of hesperetin enhanced bicalutamide induced apoptosis by exploiting mitochondrial membrane potential via polymeric nanoparticles in a PC-3 cell line. RSC Adv. 2016;6(7):5925–5935.

BARTELS, V. T. Physiological comfort of biofunctional textiles. Curr Probl Dermatol, v. 33, p. 51-66, 2006.

BATHEJA P, Sheihet L, Kohn J, Singer AJ, Michniak-Kohn B. Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: formulation optimization and in vitro and in vivo skin distribution studies. J Control Release. 2011;149(2):159–167.

BENAVENTE J. et al. Modification of a regenerated cellulose membrane with lipid nanoparticles and layers. Nanoparticle preparation, morphological and physicochemical characterization of nanoparticles and modified membranes. Journal of Membrane Science v. 355, p. 45–52, 2010.

BENVEGNI DM, Barcelos RC, Boufleur N, et al. Haloperidol-loaded polysorbate-coated polymeric nanocapsules decrease its adverse motor side effects and oxidative stress markers in rats. Neurochem Int. 2012;61(5):623–631.

BHATT, A. B. et al. Pathophysiology of chronic venous insufficiency in adults with a Fontan circulation (a pre-defined substudy of the CALF investigation). International Journal of Cardiology, v. 165, n. 1, p. 41-45, 4/30/ 2013.

BITENCOURT PER, Ferreira LM, Cargnelutti LO, et al. A new biodegradable polymeric nanoparticle formulation containing *Syzygium cumini*: phytochemical profile, antioxidant and antifungal activity and in vivo toxicity. *Ind Crops Prod*. 2016;83:400–407.

BULCAO RP, de Freitas FA, Dallegrave E, et al. In vivo toxicological evaluation of polymeric nanocapsules after intradermal administration. *Eur J Pharm Biopharm*. 2014;86(2):167–177.

CARREÑO F. et al. Pre-clinical investigation of the modulation of quetiapine plasma pharmacokinetics and tissues biodistribution by lipidcore nanocapsules. *J Pharm Biomed Anal*. 2016;119:152–158.

CASTRO E SILVA, M. et al. Projeto Diretrizes: Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Venosa Crônica. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Brasil: 1-12 p. 2002.

CHAKRABORTY, S. et al. A critical study on the interactions of hesperitin with human hemoglobin: Fluorescence spectroscopic and molecular modeling approach. *Journal of Luminescence*, v. 132, n. 6, p. 1522-1528, 6// 2012.

CHENG, S. Y. et al. A Comprehensive Study of Silicone-based Cosmetic Textile Agent. *Fibers and Polymers* v. 10, p. 132-140, 2009.

CHENG, S. Y. et al. Cosmetic textiles with biological benefits: gelatin microcapsules containing vitamin C. *Int J Mol Med*, v. 24, n. 4, p. 411-9, Oct 2009.

CHWALA, M. et al. Varicose veins of lower extremities, hemodynamics and treatment methods. *Adv Clin Exp Med*, v. 24, n. 1, p. 5-14, Jan-Feb 2015.

CONTRI, R. V. et al. Combined Effect of Polymeric Nanocapsules and Chitosan Hydrogel on the Increase of Capsaicinoids Adhesion to the Skin Surface. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 10, n. 5, p. 820830, // 2014.

CRAVOTTO, G. et al. A new cyclodextrin-grafted viscose loaded with aescin formulations for a cosmeto-textile approach to chronic venous insufficiency. *J Mater Sci Mater Med*, v. 22, n. 10, p. 2387-95, Oct 2011.

CRISÓSTOMO, R. S. D. S. et al. Influence of Manual Lymphatic Drainage on Health-Related Quality of Life and Symptoms of Chronic Venous Insufficiency: A Randomized Controlled Trial. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 96, n. 2, p. 283-291, 2// 2015.

ESPINOSA-JIMÉNEZ M, Ortega AO, Weigand RP. Análisis electrocinético y termodinámico del proceso de adsorción de azul ácido 45 sobre tejido de poliamida. *Boletín INTEXTER (U.P.C.)*. 2001;120:37–41.

FATHI M, Varshosaz J. Novel hesperetin loaded nanocarriers for food fortification: production and characterization. *J Funct Foods*. 2013;5(3):1382–1391.

FEI, B.; XIN, J. H. N, N-diethyl-m-toluamide-containing microcapsules for bio-cloth finishing. *Am J Trop Med Hyg*, v. 77, n. 1, p. 52-7, Jul 2007.

FERREIRA H.S.; RANGEL., M. C. Nanotechnology: general aspects and potential applications in catalysis. Quím. Nova, v. 32, 2009.

FIEL, L. A. et al. Variable temperature multiple light scattering analysis to determine the enthalpic term of a reversible agglomeration in submicrometric colloidal formulations: A quick quantitative comparison of the relative physical stability. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 431, p. 93-104, 8/20/2013.

FIEL LA, Rebelo LM, de Melo Santiago T, et al. Diverse deformation properties of polymeric nanocapsules and lipid-core nanocapsules. Soft Matter. 2011;7(16):7240–7247.

FORGEARINI, J. C. et al. Development of an Insect Repellent Spray for Textile Based on Permethrin-Loaded Lipid-Core Nanocapsules. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 16, n. 2, p. 1301-1309, // 2016.

FRANÇA, L. H. G.; TAVARES, V. Insuficiência venosa crônica. Uma atualização. Jornal Vascular Brasileiro, v. 4, p. 318-328, 2003.

FRANK, L. A. et al. Improving drug biological effects by encapsulation into polymeric nanocapsules. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, v. 7, n. 5, p. 623-639, 2015.

FRANK LA, Sandri G, D'Autilia F, et al. Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. Int J Nanomedicine. 2014;9:3151–3161.

FRIEDRICH RB, Coradini K, Fonseca FN, Guterres SS, Beck RC, Pohlmann AR. Lipid-core nanocapsules improved antiedematogenic

activity of tacrolimus in adjuvant-induced arthritis model. J Nanosci Nanotechnol. 2016;16(2):1265–1274.

GHOSH, S. K. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. In: (Ed.). Functional Coatings: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006. p.1-28. ISBN 9783527608478.

GIMENEZ-BASTIDA JA, Gonzalez-Sarrias A, Vallejo F, Espin JC, TomasBarberan FA. Hesperetin and its sulfate and glucuronide metabolites inhibit TNF-[small alpha] induced human aortic endothelial cell migration and decrease plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. Food Funct. 2016;7(1):118–126

CRAVOTTO G, Beltramo L, Sapino S, Binello A, Carlotti ME. A new cyclodextrin-grafted viscose loaded with aescin formulations for a cosmeto-textile approach to chronic venous insufficiency. J Mater Sci Mater Med. 2011;22(10):2387–2395.

GUJJA, K.; WILEY, J.; KRISHNAN, P. Chronic Venous Insufficiency. Interventional Cardiology Clinics, v. 3, n. 4, p. 593-605, 10// 2014.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. Drug Target Insights, v. 2, n. DTI-2-Guterres-et-al, p. 147157, 07/11 2007.

GUTIERRES, E. Z. et al. Protection against mosquitoes, tick and others insects and arthropods. 2011. Disponível em: <
<http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2014/chapter-2-the-pre-travelconsultation/protection-against-mosquitoes-ticks-and-other-insectsand-arthropods> >. Acesso em: 19/05/2015.

HOFFMANN, M. G. Nanotecnologia abre novas portas para o vestuário
HOU, M. et al. Topical hesperidin improves epidermal permeability barrier function and epidermal differentiation in normal murine skin. *Exp Dermatol*, v. 21, n. 5, p. 337-40, May 2012.

LIU, Yu et al. Antiplatelet activity of hesperetin, a bioflavonoid, is mainly mediated by inhibition of PLC- γ 2 phosphorylation and cyclooxygenase1 activity. *Atherosclerosis*. 2007; 194(1):144–152.

JORNADA, D. S. et al. Lipid-core nanocapsules: mechanism of selfassembly, control of size and loading capacity. *Soft Matter*, v. 8, n. 24, p. 6646-6655, 2012.

KAUR, I. P.; AGRAWAL, R. Nanotechnology: a new paradigm in cosmeceuticals. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, v. 1, n. 2, p. 171-82, 2007.

KÜCHLER S, Abdel-Mottaleb M, Lamprecht A, Radowski MR, Haag R, Schäfer-Korting M. Influence of nanocarrier type and size on skin delivery of hydrophilic agents. *Int J Pharm*. 2009.

KULKAMP, I. C. et al. Nanoencapsulation improves the in vitro antioxidant activity of lipoic acid. *J Biomed Nanotechnol*, v. 7, n. 4, p. 598-607, Aug 2011.;377(1–2):169–172.

Liu Y, Niu L, Cui L, et al. Hesperetin inhibits rat coronary constriction by inhibiting Ca^{2+} influx and enhancing voltage-gated K^{+} channel currents of the myocytes. *Eur J Pharmacol*. 2014;735:193–201.

MALLIPEDDI R, Rohan LC. Nanoparticle-based vaginal drug delivery systems for HIV prevention. *Expert Opin Drug Deliv*. 2010;7(1):37–48.

MARTINEZ, R. M. et al. Hesperidin methyl chalcone inhibits oxidative stress and inflammation in a mouse model of ultraviolet B irradiation-induced skin damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 148, n. 0, p. 145-153, 7// 2015.

MATHES C, Melero A, Conrad P, et al. Nanocarriers for optimizing the balance between interfollicular permeation and follicular uptake of topically applied clobetasol to minimize adverse effects. *J Control Release*. 2016;223:207–214.

MENEZES PP, Serafini MR, Santana BV, et al. Solid-state β -cyclodextrin complexes containing geraniol. *Thermochim Acta*. 2012;548:45–50.

MONDAL, S. Phase change materials for smart textiles – An overview. *Applied Thermal Engineering*, v. 28, n. 11–12, p. 1536-1550, 8// 2008.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 385, n. 1–2, p. 113-142, 1/29/ 2010.

NICHIFOR, M. et al. New multifunctional textile biomaterials for the treatment of leg venous insufficiency. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 20, n. 4, p. 975-982, 2009/04/01 2009.

NOHYNEK, G. J. et al. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicol Appl Pharmacol*, v.

243, n. 2, p. 239-59, Mar 1 2010.

NUNES, P. S. et al. Collagen-Based Films Containing LiposomeLoaded Usnic Acid as Dressing for Dermal Burn Healing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* v. 1-9, 2011.

OLIVEIRA, C. P. et al. An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. *Soft Matter*, v. 9, n. 4, p. 1141-1150, 2013.

PALADINI, F. et al. Surface chemical and biological characterization of flax fabrics modified with silver nanoparticles for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, v. 52, n. 0, p. 1-10, 7/1/ 2015.

PANEK J, Filippov SK, Konak C, et al. Polymeric nanoparticles stabilized by surfactants investigated by light scattering, small-angle neutron scattering, and cryo-TEM methods. *J Dispersion Sci Technol*. 2011;32(6):888–897.

PARI, L. et al. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicology Reports*, v. 2, n. 0, p. 46-55, // 2015.

PINHO-RIBEIRO, F. A. et al. Protective effects of the flavonoid hesperidin methyl chalcone in inflammation and pain in mice: Role of TRPV1, oxidative stress, cytokines and NF- κ B. *Chemico-Biological Interactions*, v. 228, n. 0, p. 88-99, 2/25/ 2015.

QIN Y. 2 – An overview of medical textile products. *Medical Textile Materials*. Jiaying: Woodhead Publishing; 2016:13–22.

QIN Y. 3 – A brief description of textile fibers. Medical Textile Materials. Jiaxing: Woodhead Publishing; 2016:23–42.

RABER AS, Mittal A, Schafer J, et al. Quantification of nanoparticle uptake into hair follicles in pig ear and human forearm. J Control Release. 2014;179:25–32.

RADU, C.-D.; PARTENI, O.; OCHIUZ, L. Applications of cyclodextrins in medical textiles — review. Journal of Controlled Release, v. 224, p. 146157, 2/28/ 2016.

RAFEIRO, D. F. B. Novas estratégias de promoção da permeação transdérmica. 2013. 44 (Mestrado). Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, UNIVERSIDADE LUSÓFONA, Lisboa.

RIBEIRO RF, Motta MH, Härter APG, et al. Spray-dried powders improve the controlled release of antifungal tioconazole-loaded polymeric nanocapsules compared to with lyophilized products. Mater Sci Eng C. 2016;59:875–884.

RIPOLL, L. et al. Cosmeto-textile from formulation to characterization: an overview. e-Polymers. 10: 409 p. 2010.

ROOHBAKHSH, A. et al. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. Life Sci, v. 124, p. 64-74, Mar 1 2015.

RUBIO, L. et al. Skin Delivery of Caffeine Contained in Biofunctional Textiles. Textile Research Journal, v. 80, n. 12, p. 1214-1221, July 1, 2010 2010.

SALAÜN, F.; VROMAN, I. Influence of core materials on thermal properties of melamine–formaldehyde microcapsules. *European Polymer Journal*, v. 44, n. 3, p. 849-860, 3// 2008.

SALAÜN, F.; VROMAN, I.; AUBRY, C. Preparation of double layered shell microparticles containing an acid dye by a melt dispersion–coacervation technique. *Powder Technology*, v. 192, n. 3, p. 375-383, 6/25/ 2009.

SALAÜN, F.; VROMAN, I.; ELMAJID, I. A novel approach to synthesize and to fix microparticles on cotton fabric. *Chemical Engineering Journal*, v. 213, n. 0, p. 78-87, 12/1/ 2012.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físicoquímica de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v. 26, p. 726-737, 2003.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation. *Int J Pharm*, v. 289, n. 1-2, p. 209-13, Jan 31 2005.

SERAFINI MR, Detoni CB, Guterres SS, da Silva GF, de Souza Araujo AA. Determination of in vitro usnic acid delivery into porcine skin using a HPLC method. *J Chromatogr Sci*. 2015;53(5):757–760.

SETORIAL-SIS, S. D. I. Nanotecnologia abre novas portas para o vestuário. Brasil, 2012. Disponível em: <

<http://textileindustry.ning.com/forum/topics/apostila-nanotecnologiaabre-novas-portas-para-o-vestuario> >. Acesso em: 05/19/2015.

SHETE G, Pawar YB, Thanki K, Jain S, Bansal AK. Oral bioavailability and pharmacodynamic activity of hesperetin nanocrystals generated using a novel bottom-up technology. *Mol Pharm*. 2015;12(4):1158–1170.

SIEPMANN J, Siepmann F. Mathematical modeling of drug delivery. *Int J Pharm*. 2008;364(2):328–343.

SILVA, J. A. et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 31, p. 125131, 2010.

SRIRANGAM, R. et al. Evaluation of the intravenous and topical routes for ocular delivery of hesperidin and hesperetin. *J Ocul Pharmacol Ther*, v. 28, n. 6, p. 618-27, Dec 2012.

STELLA B, Arpicco S, Rocco F, et al. Encapsulation of gemcitabine lipophilic derivatives into polycyanoacrylate nanospheres and nanocapsules. *Int J Pharm*. 2007;344(1–2):71–77.

TRABALHO-COSAT, C. D. S. E. A. D. Resolução 01/07 Implementa o Plano de Gerenciamento de Resíduos no âmbito da Faculdade de Farmácia: 65 p. 2007.

USACH, I. et al. Hesperetin induces melanin production in adult human epidermal melanocytes. Food and Chemical Toxicology, v. 80, n. 0, p. 80-84, 6// 2015.

VENTURINI, C. G. et al. Co-encapsulation of imiquimod and copaiba oil in novel nanostructured systems: promising formulations against skin carcinoma. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 79, p. 3643, 11/15/ 2015.

VENTURINI, C. G. et al. Formulation of lipid core nanocapsules. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 375, n. 1–3, p. 200-208, 2/5/ 2011.

WHO. Adherence to long-term therapies: evidences for action. Geneve 2003.

WU, X.; GUY, R. H. Applications of nanoparticles in topical drug delivery and in cosmetics. Journal of Drug Delivery Science and Technology, v. 19, n. 6, p. 371-384, // 2009.

YANG L-J, Xia S, Ma S-X, et al. Host–guest system of hesperetin and β -cyclodextrin or its derivatives: preparation, characterization, inclusion mode, solubilization and stability. Mater Sci Eng C. 2016;59:1016–1024.

YUAN G, Cranston R. Recent advances in antimicrobial treatments of textiles. Textile Res J. 2008;78(1):60–72.

8. OUTRAS ATIVIDADES

A bolsista participou como ouvinte dos minicursos: Bioética em pesquisas com seres humanos e Bioética em pesquisas com animais. Também

a apresentou no Congresso Científico Brasileiro de Estudantes de Farmácia um resumo contendo os resultados parciais acerca da preparação de nanocápsulas, impregnação das formulações nos tecidos de algodão e poliamida, teor nesses tecidos, análise por microscopia eletrônica de varredura e análise estatística dos dados obtidos.